



# بررسی تاثیر فلاونوئید کامپفرول بر ساختار پروتئین گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع ۲b در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro)

## The effect of Kaempferol as a flavonoid on the fibroblast growth factor receptor ۲b in vitro



علوم پزشکی قزوین



منابع



اطلاعات تفصیلی



مجری و همکاران



صفحه نخست سامانه

چاپ صفحه

مجریان: حسین پیری ، سجاد اصل فلاح

کلمات کلیدی: کامپفرول، FGFR، اسپکتروفلوریمتری



اطلاعات کلی طرح

کد طرح	۱۴۰۰۱۷۶۷
عنوان فارسی طرح	بررسی تاثیر فلاونوئید کامپفرول بر ساختار پروتئین گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع ۲b در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro)
عنوان لاتین طرح	The effect of Kaempferol as a flavonoid on the fibroblast growth factor receptor ۲b in vitro
کلمات کلیدی	کامپفرول، FGFR، اسپکتروفلوریمتری
نوع طرح	
نوع مطالعه	
مدت اجراء - روز	۳۶۵

ژن **FGFR2b** روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۰ انسان (۱۰q۲۶) قرار گرفته و دارای ۲۱ اگزون است. تغییرات ژنتیکی در این گیرنده با سرطان های اندومتریال، تخمدان و پستان در ارتباط می باشد. قابل ذکر است که نوع جهش یافته این گیرنده در تعدادی از سرطان ها گزارش شده است که با افزایش پیام مرتبط با این گیرنده در ارتباط است. در این پروتئین نوترکیب با انتقال الگوی موتاسیون مشاهده شده در گیرنده بیان شده در سلول سرطانی به نوع طبیعی پروتئین، فرم فعال و نوترکیب ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین **FGFR2b** ایجاد شده است که دارای جهش های مورد نظر می باشد. قابل ذکر است که تهیه ی ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین **FGFR2b** به صورت خالص این امکان را فراهم می کند که در مطالعات بتوان اطلاعاتی راجع به ساختار و نیز بررسی برهمکنش پروتئین و لیگاند از جمله اثر مهارکننده های مختلف را روی ناحیه ی کینازی این پروتئین به دست آورد. بر این اساس در این تحقیق، تغییرات ساختاری پروتئین نوترکیب **FGFR2b** بر اثر برهمکنش با فلاونوئید کامپفرول بررسی می گردد.

هدف کلی	بررسی max و min غلظت اثر کامپفرول از خانواده فلاونوئیدها بر ساختار ناحیه کینازی رسپتور فاکتور رشد فیبروبلاستی نوع دوم.
خلاصه روش کار	۱- ترانسفورماسیون پلاسمید نوترکیب به داخل <i>E.coli</i> ۲. بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب ۳. <i>fgfr2b</i> -تعیین اثر کامپفرول بر روی ساختار سوم پروتئین تخلیص شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفلوریمتری.

#### اطلاعات مجری و همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	درجه تحصیلی	پست الکترونیک
حسین پیری	استاد راهنمای اول	اجراء طرح	دکتر - PHD	<a href="mailto:hosseinpriy@gmail.com">hosseinpriy@gmail.com</a>
سجاد اصل فلاح	مجری	اجراء طرح	پزشک عمومی	<a href="mailto:aslefallahsajadv5@gmail.com">aslefallahsajadv5@gmail.com</a>

#### اطلاعات تفصیلی

عنوان	متن
چکیده طرح	<p>کامپفرول (kaempferol) با فرمول شیمیایی <math>C_{15}H_{10}O_6</math> یک ترکیب شیمیایی با شناسه Pubchem ۳۷۰ و با جرم مولی <math>286.24 \text{ g/mol}</math> می باشد. این ماده به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و به سلول های بدن در محافظت از صدمات اکسیداتیو کمک می کند. دیده شده است که دارای ویژگی ضد سرطانی است بدون اینکه به سلول های بدن و DNA آسیب برساند. همچنین دارای اثرات ضد آلرژیک، استروژنیک، <i>osteoporosis</i> آنتی میکروبیال، هیپوگلاسمیک و اثر آنتی اکسیدانتی می باشد که در سلامتی انسان مفید است. کامپفرول در تنظیم فسفریلاسیون RAS/MAPK مسیرهای انتقال سیگنال را کاهش می دهد و همچنین جلوی تکثیر سلول های سرطانی را می گیرد. در این تحقیق، تغییرات ساختاری پروتئین نوترکیب <b>FGFR2b</b> بر اثر برهمکنش با فلاونوئید کامپفرول بررسی می گردد. پلاسمید نوترکیب حامل ژن مورد نظر به داخل <i>E.coli</i> BL۲۱(DE۳) ترانسفورم شده و تحت بیان قرار می گیرد. جهت بیان ژن مورد نظر از IPTG استفاده می گردد. اندازه گیری شدت فلوئورسانس ذاتی توسط دستگاه اسپکتروفلورومتر صورت خواهد گرفت. پروتئین با غلظت مشخص در بافر فسفات تهیه می شود. محلول پروتئین در حضور و عدم حضور لیگاندهای متفاوت در هر آزمایش توسط طول موج ۲۸۰ نانومتر تحریک و طول موج نشری ثبت می شود. برای تهیه</p>

طیف فلورسانس پروتئین، ابتداء لیگاند با پروتئین در محلول بافری به مدت ده دقیقه تیمار می شود. این عمل با غلظت های متفاوت لیگاندها در غلظت ثابت پروتئین صورت خواهد گرفت.

پیشینه طرح	<p>Wasowski c, Pym LJ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ بر روی فلاونوئید ها به عنوان لیگاندهای گیرنده GABA آزمایش کردند و دریافتند به طور خلاصه فلاونوئید های طبیعی و سنتتیک به عنوان لیگاند جایگاه اتصال بنزودیازپین ها داروهای موثر روی گیرنده های GABA اثرات سودمند روی سیستم عصبی مرکزی دارند در ضمن می توانند به عنوان ابزار برای مطالعه جایگاه های تنظیم کننده موجود در گیرنده های GABA و تولید داروهای GABA subtype-selective مورد استفاده قرار گیرند. (۱۰) Moon H.kim و همکارانش در سال ۲۰۱۲ بر روی سنتز و سنجش بیولوژیکی مهار کننده گیرنده تیروزین کینازی بررسی کردند. (۳۵) Yong Lu, Feng Jiang و همکارانشان در سال ۲۰۱۰ در ژورنال اروپایی فارماکولوژی بر روی گالیک اسید که می تواند از هجوم و تکثیر و دوام و انژیوزنز در glioma cell انسان ممانعت می کند آزمایش کردند. و به این نتیجه رسیدند که گالیک اسید باعث کاهش انتقال و هجوم cell glioma می شود. (۳۱) J.Buratini و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی بیان و عملکرد FGF۱۰ و گیرنده آن و FGF۲b در فولیکول گاوی را بررسی کردند. (۱۵) Daphnie pauwels و همکاران آن در سال ۲۰۱۲ مهار کننده FIT۳ کینازی جدیدی را تشخیص دادند. (۳۴)</p>
فهرست کلی فصول	
هدف از اجرا	<p>هدف از این تحقیق، مشخص شدن عوامل موثر در تغییر ساختار پروتئین نوترکیب FGFR۲b می باشد که می تواند در درمان برخی سرطان ها موثر باشد.</p>
فرضیات یا سوالات پژوهشی	<p>ساختار پروتئین FGFR۲b در برهمکنش با کامپفرول تغییر می کند.</p>
چه موسساتی می توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟	<p>بهره وران نتایج کاربردی این تحقیق دانشگاه های علوم پزشکی و مراکز تحقیقات دارویی و سرطان می باشند.</p>
در صورت ساخت دستگاه نظر صنعت و داوران	
کلید واژه های فارسی	<p>کامپفرول، FGFR، اسپکتروفلوریمتری</p>
روش پژوهش و تکنیک های اجرایی	<p>پلاسمید نوترکیب حامل ژن مورد نظر به داخل BL۲۱(DE۳) E.coli ترانسفورم شده و تحت بیان قرار می گیرد. جهت بیان ژن مورد نظر از IPTG استفاده می گردد. در تمام آزمایشات مربوط به کلونینگ و بیان ژن، میزبان حامل پلاسمید نوترکیب در محیط LB آگار یا LB براث کشت داده می شود. از آمپی سیلین جهت انتخاب کلونی های باکتری حامل پلاسمید های نوترکیب استفاده می شود. پس از انکوباسیون لازم جهت القاء، سلولها با استفاده از سانتریفیوژ جمع آوری گردیده و به کمک سونیکاتور لیز می گردند. لیزات سلولی حاصل سانتریفیوژ شده و عصاره صاف شده بدست آمده با استفاده از آمونیوم سولفات تغلیظ می گردد. عصاره تغلیظ شده با استفاده از بافر مناسب تحت دیالیز قرار می گیرد و در ادامه جهت تخلیص مورد استفاده قرار می گیرد. برای تخلیص، از ستون کروماتوگرافی تعویض یون استفاده می گردد. جهت جداسازی پروتئین مورد نظر (محصول بیان شده) از گرادیان NaCl در بافر مناسب استفاده می گردد. فرکشن های حاوی پروتئین مورد نظر در مقابل بافر مناسب دیالیز گردیده و جمع آوری می گردد. در ادامه، محصول بدست آمده در مرحله قبل مجدداً با استفاده از کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون تخلیص می گردد. فرکشن های حاوی محصول بیان شده، جمع آوری شده و با استفاده از دیالیز در بافر مناسب قرار می گیرد. در ادامه، محصول بدست آمده تغلیظ گردیده و یک نمونه از آن جهت ارزیابی خلوص نمونه با استفاده از SDS-PAGE آزمایش می گردد. از رنگ کوماسی بریلیانت بلو جهت</p>

ظاهر سازی پروتئین ها در محیط PAGE استفاده می شود و پروتئین های جداسازی شده بر اساس Size در مقایسه با استاندارد مشخص می گردند. پس از اینکه به مقدار کافی پروتئین تولید شد برهمکنش زیر واحدهای آن با همدیگر با SDS PAGE و همچنین با کامپفرول توسط دستگاه اسپکترو فلوئومتری بررسی می شود. اندازه گیری شدت فلوئورسانس ذاتی توسط دستگاه اسپکتروفلوئومتر صورت خواهد گرفت. پروتئین با غلظت مشخص در بافر فسفات تهیه می شود. محلول پروتئین در حضور و عدم حضور لیگندهای متفاوت در هر آزمایش توسط طول موج ۲۸۰ نانومتر تحریک و طول موج نشری ثبت می شود. برای تهیه طیف فلوئورسانس پروتئین، ابتداء لیگاند با پروتئین در محلول بافری به مدت ده دقیقه تیمار می شود. این عمل با غلظت های متفاوت لیگاندها در غلظت ثابت پروتئین صورت خواهد گرفت. (۳۴,۳۴)

تغییرات ژنتیکی در این گیرنده ژن  $FGFR2b$  با سرطان های اندومتریال، تخمدان و پستان در ارتباط می باشد. (۲۳) قابل ذکر است که نوع جهش یافته این گیرنده در تعدادی از سرطان ها گزارش شده است که با افزایش پیام مرتبط با این گیرنده در ارتباط است. (۷,۴) در این پروتئین نوترکیب با انتقال الگوی موتاسیون مشاهده شده در گیرنده بیان شده در سلول سرطانی به نوع طبیعی پروتئین، فرم فعال و نوترکیب ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین  $FGFR2b$  ایجاد شده است که دارای جهش های مورد نظر می باشد. قابل ذکر است که تهیه ی ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین  $FGFR2b$  به صورت خالص این امکان را فراهم می کند که در مطالعات بتوان اطلاعاتی راجع به ساختار و نیز بررسی برهمکنش پروتئین و لیگاند از جمله اثر مهارکننده های مختلف را روی ناحیه ی کینازی این پروتئین به دست آورد. (۴,۲۳) بر این اساس در این تحقیق، تغییرات ساختاری پروتئین نوترکیب  $FGFR2b$  بر اثر برهمکنش با فلاونوئید کامپفرول بررسی می گردد.

دلایل ضرورت و توجیه انجام کار

کامپفرول،  $FGFR$ ، اسپکتروفلوریمتری

کلید واژه های فارسی بازنگری شده

منابع فارسی استفاده نشده است.

فهرست منابع و مراجع علمی داخلی

۱. Kalinina J, Dutta K, Ilghari D, Beenken A, Goetz R, Eliseenkova AV, et al. The Alternatively Spliced Acid Box Region Plays a Key Role in FGF Receptor Autoinhibition. Structure. ۲۰۱۲;۲۰(۱):۷۷-۸۸. ۲. Haugsten EM, Wiedlocha A, Olsnes S, Wesche Jr. Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis. Molecular Cancer Research. ۲۰۱۰;۸(۱۱):۱۴۳۹-۵۲. ۳. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell. ۲۰۰۰;۱۰۳(۲):۲۱۱. ۴. Lew ED, Furdul CM, Anderson KS, Schlessinger J. The precise sequence of FGF receptor autophosphorylation is kinetically driven and is disrupted by oncogenic mutations. Science Signalling. ۲۰۰۹;۲(۵۸):ra۶. ۵. Chen H, Ma J, Li W, Eliseenkova AV, Xu C, Neubert TA, et al. A molecular brake in the kinase hinge region regulates the activity of receptor tyrosine kinases. Molecular cell. ۲۰۰۷;۲۷(۵):۷۱۷-۳۰. ۶. Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. Cytokine & growth factor reviews. ۲۰۰۵;۱۶(۲):۱۳۹-۴۹. ۷. Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. Nature Reviews Drug Discovery. ۲۰۰۹;۸(۳):۲۳۵-۵۳. ۸. Orr-Urtreger A, Bedford MT, Burakova T, Arman E, Zimmer Y, Yayon A, et al. Developmental localization of the splicing alternatives of fibroblast growth factor receptor-۲ ( $FGFR2$ ). Developmental biology. ۱۹۹۳;۱۵۸(۲):۴۷۵-۸۶. ۹. Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in

فهرست منابع و مراجع علمی خارجی

tumorigenesis. Cytokine & growth factor reviews. ۲۰۰۵; ۱۶(۲):۱۷۹-۸۶. ۱۰. Kan S-h, Elanko N, Johnson D, Cornejo-Roldan L, Cook J, Reich EW, et al. Genomic screening of fibroblast growth-factor receptor ۲ reveals a wide spectrum of mutations in patients with syndromic craniosynostosis. American journal of human genetics. ۲۰۰۲; ۷۰(۲):۴۷۲-۸۶. ۱۱. Dode C, Levilliers J, Dupont J-M, De Paepe A, Le De N, Soussi-Yanicostas N, et al. Loss-of-function mutations in FGFR۱ cause autosomal dominant Kallmann syndrome. Nature genetics. ۲۰۰۳; ۳۳(۴):۴۶۳-۵. ۱۲. Rohmann E, Brunner HG, Kayserili H, Uyguner O, Nornberg G, Lew ED, et al. Mutations in different components of FGF signaling in LADD syndrome. Nature genetics. ۲۰۰۶; ۳۸(۴):۴۱۴-۷. ۱۳. Luo J, Solimini NL, Elledge SJ. Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. Cell. ۲۰۰۹; ۱۳۶(۵):۸۲۳-۳۷. ۱۴. Greenman C, Stephens P, Smith R, Dalgliesh GL, Hunter C, Bignell G, et al. Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. Nature. ۲۰۰۷; ۴۴۶(۷۱۳۲):۱۵۳-۸. ۱۵. Ruhe JE, Streit S, Hart S, Wong C-H, Specht K, Knyazev P, et al. Genetic alterations in the tyrosine kinase transcriptome of human cancer cell lines. Cancer research. ۲۰۰۷; ۶۷(۲۳):۱۱۳۶۸-۷۶. ۱۶. Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Plotnikov AN, Yu K, Ornitz DM, Mohammadi M. Structural basis for fibroblast growth factor receptor ۲ activation in Apert syndrome. Proceedings of the National Academy of Sciences. ۲۰۰۱; ۹۸(۱۳):۷۱۸۲-۷. ۱۷. Webster MK, Donoghue DJ. FGFR activation in skeletal disorders: too much of a good thing. Trends in Genetics. ۱۹۹۷; ۱۳(۵):۱۷۸-۸۲. ۱۸. Bcrsagell PL. Frequent translocation t (۴; ۱۴)(p۱۶. ۳; q۳۲. ۳) in multiple myeloma is associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor receptor ۳. Nature genetics. ۱۹۹۷; ۱۶:۲۶۰-۴. ۱۹. Wang J, Stockton DW, Ittmann M. The fibroblast growth factor receptor-۴ Arg۳۸۸ allele is associated with prostate cancer initiation and progression. Clinical cancer research. ۲۰۰۴; ۱۰(۱۸):۶۱۶۹-۷۸. ۲۰. Pytel D, Sliwinski T, Poplawski T, Ferriola D, Majsterek I. Tyrosine kinase blockers: new hope for successful cancer therapy. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry. ۲۰۰۹; ۹(۱):۶۶-۷۶. ۲۱. Sliwowski MX, Lofgren JA, Lewis GD, Hotaling TE, Fendly BM, Fox JA. Nonclinical studies addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin). Seminars in oncology. ۱۹۹۹; ۲۶:۶۰. ۲۲. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. Nature medicine. ۱۹۹۶; ۲(۵):۵۶۱-۶. ۲۳. Byron SA, Gartside MG, Wellens CL, Mallon MA, Keenan JB, Powell MA, et al. Inhibition of activated fibroblast growth factor receptor ۲ in endometrial cancer cells induces cell death despite PTEN abrogation. Cancer research. ۲۰۰۸; ۶۸(۱۷):۶۹۰۲-۷. ۲۴. Friedrich I, Shir A, Klein S, Levitzki A. RNA molecules as

anti-cancer agents. *Seminars in cancer biology*. ۲۰۰۴; ۱۴:۲۲۳-۳۰. ۲۵. Damm-Welk C, Fuchs U, Wissmann W, Borkhardt A. Targeting oncogenic fusion genes in leukemias and lymphomas by RNA interference. *Seminars in cancer biology*. ۲۰۰۳; ۱۳:۲۸۳-۹۲. ۲۶. M. Carnes et al. 'A Stable Tetraalkyl Complex of Nickel(IV)'. *Angewandte Chemie International Edition* (۲۰۰۹) ۴۸: ۳۳۸۴. DOI: ۱۰.۱۰۰۲/anie.۲۰۰۸.۴۴۳۵. ۲۷. S. Pfirrmann et al. 'A Dinuclear Nickel(I) Dinitrogen Complex and its Reduction in Single-Electron Steps'. *Angewandte Chemie International Edition* (۲۰۰۹) ۴۸: ۳۳۵۷. DOI: ۱۰.۱۰۰۲/anie.۲۰۰۸.۵۸۶۲. ۲۸. Il'yasova D SGG. Cadmium and renal cancer. *Toxicol Appl Pharmacol*. ۲۰۰۵; ۲۰۷: ۱۷۹-۱۸۶. doi: ۱۰.۱۰۱۶/j.taap.۲۰۰۴.۱۲.۰۰۵ ۲۹. Nakashima, T; Matsuno, K; Matsushita. 'Lifestyle-determined gender and hierarchical differences in the lead contamination of bones from a feudal town of the Edo period'. *Journal of occupational health*, T (۲۰۰۷) ۴۹ (۲): ۱۳۴-۹. doi: ۱۰.۱۵۳۹/joh.۴۹.۱۳ ۳۰. Yumoto, Sakae; Kakimi, Shigeo; Ohsaki, Akihiro; Ishikawa, Akira. 'Demonstration of aluminum in amyloid fibers in the cores of senile plaques in the brains of patients with Alzheimer's disease'. *Journal of Inorganic Biochemistry* (۲۰۰۹) ۱۰۳ (۱۱): ۱۵۷۹-۸۴. doi: ۱۰.۱۰۱۶/j.jinorgbio.۲۰۰۹.۰۷.۰۲۳ ۳۱. Yong Lu, Feng Jiang, Hao Jiang, Kalina Wu, Xuguang Zheng, Yizhong Cai, Mark Katakowski, Michael Choppb, Shing-Shun Tony. 'Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells' *European Journal of Pharmacology* ۶۴۱ (۲۰۱۰) ۱۰۲-۱۰۷ ۳۲. M. Naczka, M. Townsend, R. Zadernowski, Shahidi. 'Protein-binding and antioxidant potential of phenolics of mangosteen fruit (*Garcinia mangostana*)' *Food Chemistry* ۱۲۸ (۲۰۱۱) ۲۹۲-۲۹۸ ۳۳. Claudriana Locatelli, Fabíola Branco Filippin-Monteiro, Tânia Beatriz Creczynski-Pasa. 'Alkyl esters of gallic acid as anticancer agents: A review' *European Journal of Medicinal Chemistry* ۶۰ (۲۰۱۳) ۲۳۳-۲۳۹ ۳۴. Mamdouh S. Masouda, Alaa E. Ali, Sawsan S. Haggag, Nessma M. Nasr. 'Spectroscopic studies on gallic acid and its azo derivatives and their iron(III) complexes' *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* ۱۲۰ (۲۰۱۴) ۵۰۵-۵۱۱ ۳۵. Moon H. Kim, Amy Lew Tsuhako, Erick W. Co, Dana T. Aftab, Frauke Bentzien, Jason Chen, Wei Cheng, Stefan Engst, Levina Goon, Rhett R. Klein, Donna T. Le, Morrison Mac, Jason J. Parks, Fawn Qian, Monica Rodriguez, Thomas J. Stout, Jeffrey H. Till, Kwang-Ai Won, Xiang Wu, F. Michael Yakes, Peiwen Yu, Wentao Zhang, Yeping Zhao, Peter Lamb, John M. Nuss, Wei Xu ۳۶. Daphnie Pauwels, Hugo Klaassen, Idoya Lahortiga, Amuri Kilonda, Kris Jacobs, Bram Sweron, Romuald Corbau, Patrick Chaltin *European Journal of Medicinal Chemistry* ۶۳ (۲۰۱۳) ۷۱۳-۷۲۱. Identification of novel FLT $\gamma$  kinase inhibitors. ۳۷. Mustafa RA. Abdul Hamid A. Mohamed S. Bakar FA. 'Total phenolic compounds, flavonoids, and radical

scavenging activity of ۲۱ selected tropical plants'. Journal of Food Science. ۷۵(۱):C۲۸-۳۵, ۲۰۱۰ Jan-Feb. ۳۸. Ncibi, S; Ben Othman, M; Akacha, A; Krifi, MN; Zourgui, L (۲۰۰۸). 'Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver'. Food and chemical toxicology ۴۶ (۲): ۷۹۷-۸۰۲. doi:۱۰.۱۰۱۶/j.fct.۲۰۰۷.۰۸.۰۴۷ ۳۹. "A review on the dietary flavonoid kaempferol." Calderón-Montaña JM<sup>۱</sup>, Burgos-Morón E, Pérez-Guerrero C, López-Lázaro M. Mini Rev Med Chem. ۲۰۱۱ Apr; ۱۱(۴):۲۹۸-۳۴۴ ۴۰. "Quercetin inhibits invasion, migration and signalling molecules involved in cell survival and proliferation of prostate cancer cell line (PC-۳)." Cell Biochem Funct. ۲۰۱۱ Mar; ۲۹(۲):۸۷-۹۵. doi: ۱۰.۱۰۰۲/cbf.۱۷۲۵. Epub ۲۰۱۱ Feb ۹. Senthilkumar K<sup>۱</sup>, Arunkumar R, Elumalai P, Sharmila G, Gunadharini DN, Banudevi S, Krishnamoorthy G, Benson CS, Arunakaran J ۴۱. "Differential effects of quercetin, apigenin and genistein on signalling pathways of protease-activated receptors PAR<sup>۱</sup> and PAR<sup>۴</sup> in platelets" Br J Pharmacol. Nov ۲۰۰۹ L Navarro-Núñez, J Rivera, JA Guerrero, C Martínez, V Vicente, and ML Lozano ۴۲. "Naringin inhibits growth potential of human triple-negative breast cancer cells by targeting  $\beta$ -catenin signaling pathway." Toxicol Lett. ۲۰۱۳ Jul ۱۸; ۲۲۰(۳):۲۱۹-۲۸. doi: ۱۰.۱۰۱۶/j.toxlet.۲۰۱۳.۰۵.۰۰۶. Epub ۲۰۱۳ May ۱۸. Li H<sup>۱</sup>, Yang B, Huang J, Xiang T, Yin X, Wan J, Luo F, Zhang L, Li H, Ren G ۴۳. "Naringin inhibits ROS-activated MAPK pathway in high glucose-induced injuries in H<sub>9c2</sub> cardiac cells." Basic Clin Pharmacol Toxicol. ۲۰۱۴ Apr; ۱۱۴(۴):۲۹۳-۳۰۴. doi: ۱۰.۱۱۱۱/bcpt.۱۲۱۵۳. Epub ۲۰۱۳ Dec ۱۱. Chen J<sup>۱</sup>, Guo R, Yan H, Tian L, You Q, Li S, Huang R, Wu K. ۴۴. Effects of naringin on the proliferation and osteogenic differentiation of human amniotic fluid-derived stem cells Meimei Liu<sup>۱</sup>, Yan Li<sup>۲,\*</sup> and Shang-Tian Yang<sup>۱,\*</sup> Article first published online: ۱۱ JUN ۲۰۱۴

مشخص شدن عوامل موثر در تغییر ساختار پروتئین نوترکیب FGFR<sup>۲b</sup> می تواند در درمان برخی سرطان ها موثر باشد. بهره وران نتایج کاربردی این تحقیق دانشگاه های علوم پزشکی و مراکز تحقیقات دارویی و سرطان می باشند.

خلاصه نتیجه اجرای طرح

Wasowski c, Pym LJ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ بر روی فلاونوئید ها به عنوان لیگاند های گیرنده GABA آزمایش کردند و دریافتند به طور خلاصه فلاونوئید های طبیعی و سنتتیک به عنوان لیگاند جایگاه اتصال بنزودیازپین ها داروهای موثر روی گیرنده های GABA اثرات سودمند روی سیستم عصبی مرکزی دارند در ضمن می توانند به عنوان ابزار برای مطالعه جایگاه های تنظیم کننده موجود در گیرنده های GABA و تولید داروهای GABA subtype-selective مورد استفاده قرار گیرند. (۱۰) Moon H.kim و همکارانش در سال ۲۰۱۲ بر روی سنتز و سنجش بیولوژیکی مهار کننده گیرنده تیروزین کینازی بررسی کردند. (۳۵) Yong Lu, Feng Jiang و همکارانشان در سال ۲۰۱۰ در ژورنال اروپایی فارماکولوژی بر روی گالیک اسید که می تواند از هجوم و تکثیر و دوام و انژیوژنز در glioma cell انسان ممانعت می کند آزمایش کردند. به این نتیجه رسیدند که گالیک اسید باعث کاهش انتقال و هجوم cell glioma می شود. (۳۱) J. Buratini و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی بیان و عملکرد FGF<sup>۱۰</sup>

سابقه علمی طرح و پژوهش های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران

گیرنده ان وFGF۲bدر فولیکول گاوی را بررسی کردند.(۱۵) Daphnie pauwels و همکاران ان در سال ۲۰۱۲مهار کننده FIT۳ کینازی جدیدی را تشخیص دادند.(۳۴)

خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده ۱- ترانسفورماسیون پلاسمید نوترکیب به داخل ۲. E.coli- بیان و تخلیص پروتئین نوترکیب ۳. fgfr۲b- تعیین اثر کامپفرول بر روی ساختار سوم پروتئین تخلیص شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفلوریمتری.

## WhatRequirementsAreMet

ملاحظات گروه

ملاحظات ناظر

HomeAddress

WorkPlace

جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری در این تحقیق از پروتئین نوترکیب FGFR۲B جهت انجام کلیه تیمارهای مربوط به فلاونوئیدها استفاده خواهد شد.

بیان مسأله و بررسی متون

فاکتور رشد فیبروبلاستی یا FGF، پروتئینی است که در بسیاری از فرایندهای سلولی نظیر تقسیم سلولی، تکوین جنین، رگ زایی و بسیاری فرآیندهای دیگر نقش دارد. به علاوه، این پروتئین به عنوان یک فاکتور مهم به محیط کشت سلولهای بنیادی جنینی انسانی اضافه می شود تا بتوان سلول ها را در حالت بنیادینگی و بدون تمایز حفظ و تکثیر کرد.(۱) فاکتورهای رشد فیبروبلاستی در پستانداران شامل خانواده ای از ۱۸ عضو هستند (FGF۱) الی FGF۱۰ و FGF۱۶ الی (FGF۲۳) که از طریق چهار گیرنده تیروزین کینازی (FGFR۱) الی (FGFR۴) و ایزوفرم های آن ها ایجاد پیام می کنند تا رشد و نمو جنین و سوخت و ساز بدن بزرگسالان را تنظیم کنند. مشخص شده است که انتقال پیام کنترل نشده فاکتورهای رشد فیبروبلاستی می تواند منجر به بدخیمی در انسان شود. (۲) گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاست (FGFR) در مسیر پیام رسانی سلول نقش کلیدی در تنظیم فرآیندهای زیستی از جمله تکثیر سلولی، بقا، مهاجرت و تمایز سلولی ایفا می کنند. متابولیسم سلولی، ترمیم بافتی، رگ زایی و توسعه ی مراحل جنینی از جمله وظایفی هستند که در دوران جنینی و بزرگسالی در بدن توسط این گیرنده ها با اتصال به فاکتورهای رشد فیبروبلاستی (FGF) انجام می شود.(۵) فرم های موتاسیون یافته ی گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی در سرطان های متعددی از جمله سرطان ریه، پستان، معده، مغز، سر و گردن، پروستات، کولون، رحم، مثانه و هم چنین مولتیپل میلوما شناخته شده است.(۶) FGFR۲ نقش مهمی را در رشد و ترمیم بافتی دارد، بویژه استخوان و عروق خونی.(۱) پروتئین نوترکیب FGFR۲b متعلق به خانواده ی گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGFR) است. این پروتئین دارای ۳۳۴ اسید آمینه و وزن مولکولی تقریبی ۳۸ کیلودالتون می باشد. هفت گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی شامل FGFR۳c، FGFR۲b، FGFR۲c، FGFR۱c، FGFR۱b، FGFR۴ و FGFR۳c می باشد.(۳۷) گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاستی متعلق به خانواده ای از گیرنده های تیروزین کینازی هستند که همه ی آن ها دارای یک بخش داخل غشایی، یک ناحیه خارج سلولی متصل شونده به لیگاند و یک ناحیه داخل سلولی که خاصیت تیروزین کینازی دارد، هستند.(۲،۳) اتصال فاکتور رشد فیبروبلاستی به گیرنده خود باعث جفت شدن گیرنده و به دنبال آن فسفریلاسیون اسید آمینه تیروزین موجود در ناحیه کینازی می شود که متعاقب آن قسمت انتهایی کربوکسیل گیرنده فسفریله می شود و در نتیجه گیرنده فعال می گردد و پروتئین های داخل سلولی را فسفریله و فعال می کند و در نهایت شبکه ی انتقال پیام (سیگنالینگ) داخل سلولی را القاء می کنند که فرآیندهای بیولوژیکی کلیدی مانند تکثیر سلولی، بقا، مهاجرت و تمایز را به طور دقیق تنظیم می کنند.(۲۵) تقریباً ۲۰٪ ژن های انسانی محصولاتی را کد می کنند که در مسیرهای پیام رسانی (سیگنالینگ) سلولی مشارکت دارند. تنظیم کننده اصلی این مسیرها از طریق واکنشهای فسفریلاسیون/دفسفریلاسیون عمل می نمایند. آنزیم های پروتئین کیناز مسئول فسفریلاسیون



اسید آمینه تیروزین روی پروتئین هدف خود هستند. فعال سازی کینازها از طریق ایجاد موتاسیون باعث فعالیت کینازی مداوم این آنزیم ها می شود، بنابراین به نظر می رسد که این پروتئین ها به عنوان یک هدف درمانی جالب برای درمان سرطان باشند. (۵) عدم تعادل در انتقال پیام (سیگنالینگ) FGFR با چندین اختلال پاتولوژیک انسانی مرتبط است مانند سندرم های اسکلتی از جمله سندرم Crouzon و سندرم Pfeiffer که به دلیل جهش در ناحیه کینازی پروتئین FGFR<sub>۲</sub> ایجاد می شوند، سندرم kalmann که می توان آن را به جهش در FGFR<sub>۱</sub> نسبت داد، سندرم LADD که به دلیل کاهش عملکرد در ناحیه کینازی FGFR<sub>۲</sub> و FGFR<sub>۳</sub> ایجاد می شود و نیز برخی از سرطان ها. (۱،۲۳،۲۵) جهش های افزایش عملکرد در پروتئین FGFR مسئول بیماریهای مختلف از جمله Craniosynostosis، سندرم Dwarfing، سندرم Abert، سندرم Antley-Bixer و برخی از سرطان هاست. جهش هایی که منجر به بیان بیش از اندازه و افزایش عملکرد FGFR<sub>۳</sub> می شوند در مولتیپل میلوما رخ می دهد، همچنین یک موتاسیون نقطه ای در آن می تواند منجر به achondroplasia شود. FGFR<sub>۴</sub> نیز به عنوان یک مارکر پیش آگهی از سرطان است. (۲۳،۲۵۷،۲) ژن FGFR<sub>۲b</sub> روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۰ انسان (۱۰q۲۶) قرار گرفته و دارای ۲۱ اگزون است. تغییرات ژنتیکی در این گیرنده با سرطان های اندومتریال، تخمدان و پستان در ارتباط می باشد. (۲۳) قابل ذکر است که نوع جهش یافته این گیرنده در تعدادی از سرطان ها گزارش شده است که با افزایش پیام مرتبط با این گیرنده در ارتباط است. (۷،۴) در این پروتئین نو ترکیب با انتقال الگوی موتاسیون مشاهده شده در گیرنده بیان شده در سلول سرطانی به نوع طبیعی پروتئین، فرم فعال و نو ترکیب ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین FGFR<sub>۲b</sub> ایجاد شده است که دارای جهش های مورد نظر می باشد. قابل ذکر است که تهیه ی ناحیه ی تیروزین کینازی پروتئین FGFR<sub>۲b</sub> به صورت خالص این امکان را فراهم می کند که در مطالعات بعدی بتوان اطلاعاتی راجع به ساختار و نیز بررسی برهمکنش پروتئین و لیگاند از جمله اثر مهارکننده های مختلف را روی ناحیه ی کینازی این پروتئین به دست آورد. (۴،۲۳) بر این اساس در این تحقیق، تغییرات ساختاری پروتئین نو ترکیب FGFR<sub>۲b</sub> بر اثر برهمکنش با فلاونوئید کامپفرول بررسی می گردد. کامپفرول (kaempferol) با فرمول شیمیایی C<sub>۱۵</sub>H<sub>۱۰</sub>O<sub>۶</sub> یک ترکیب شیمیایی با شناسه Pubchem ۳۷۰ و با جرم مولی ۲۸۶.۲۴g/mol می باشد و شکل ظاهری آن به صورت پودر زرد رنگ است. اندکی از آن در آب و بیشتر در اتانول گرم و دی اتیل اتر حل می شود. کامپفرول و گلیکوزید آن را میتوان از عصاره ساقه برگی سرخس *phegopteris connectilis* گرفت و در *gingko biloba* و در دیگر گیاهان وجود دارد. (۳۷،۳۸) این ماده به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و به سلول های بدن در محافظت از صدمات اکسیداتیو کمک می کند. دیده شده است که دارای ویژگی ضد سرطانی است بدون اینکه به سلول های بدن و DNA آسیب برساند. همچنین دارای اثرات ضد آلرژیک، استروژنیک، osteoporosis، میکروبیال، هیپوگلاسمیک و اثر آنتی اکسیدانی می باشد که در سلامتی انسان مفید است. (۳۸) در سنتز اسیدهای چرب به عنوان بازدارنده برگشت پذیر قوی رفتار می کند. و همچنین باعث آپوپتوز در سلول های سرطانی و بر علیه استرس اکسیداتیو cytotoxicity محافظت می کند. و به عنوان بازدارنده فعالیت IC<sub>۵۰</sub> و MAO نقش ایفا می کند. (۳۹). کامپفرول در تنظیم فسفریلاسیون RAS/MAPK مسیرهای انتقال سیگنال را کاهش می دهد و همچنین جلوی تکثیر سلول های سرطانی را می گیرد. (۳۹) Wasowski c, Pym LJ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ بر روی فلاونوئید ها به عنوان لیگاندهای گیرنده GABA آزمایش کردند و دریافتند که به طور خلاصه فلاونوئید های طبیعی و سنتتیک به عنوان لیگاند جایگاه اتصال بنزودیازپین ها داروهای موثر روی گیرنده های GABA اثرات سودمند روی سیستم عصبی مرکزی دارند در ضمن می توانند به عنوان ابزار برای مطالعه جایگاه های تنظیم کننده موجود در گیرنده های GABA و تولید داروهای GABA subtype-selective مورد استفاده قرار گیرند. (۱۰) Moon H.kim و همکارانش در سال ۲۰۱۲ بر روی سنتز و سنجش بیولوژیکی مهار کننده گیرنده تیروزین کینازی بررسی کردند. (۳۵) Yong Lu, Feng Jiang و همکارانشان در سال ۲۰۱۰ در ژورنال اروپایی فارماکولوژی بر روی گالیک اسید که می تواند از هجوم و تکثیر و دوام و انژیوژن در glioma cell انسان ممانعت می کند آزمایش کردند. و به این نتیجه رسیدند که گالیک اسید باعث کاهش انتقال و هجوم cell glioma می شود. (۳۱)

J.Buratini و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بر روی بیان و عملکرد  $FGF_{10}$  و گیرنده آن و  $FGF_{2b}$  در فولیکول گاوی را بررسی کردند.  
(۱۵) Daphnie pauwels و همکاران آن در سال ۲۰۱۲ مهار کننده  $FIT_3$  کینازی جدیدی را تشخیص دادند. (۳۴)



## منابع

1. Kalinina J, Dutta K, Ilghari D, Beenken A, Goetz R, Eliseenkova AV, et al. The Alternatively Spliced Acid Box Region Plays a Key Role in FGF Receptor Autoinhibition. Structure. 2012;20(1):77-88.
2. Haugsten EM, Wiedlocha A, Olsnes S, Wesche Jr. Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis. Molecular Cancer Research. 2010;8(11):1439-52.
3. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell. 2000;103(2):211.
4. Lew ED, Furdul CM, Anderson KS, Schlessinger J. The precise sequence of FGF receptor autophosphorylation is kinetically driven and is disrupted by oncogenic mutations. Science Signalling. 2009;2(58):ra6.
5. Chen H, Ma J, Li W, Eliseenkova AV, Xu C, Neubert TA, et al. A molecular brake in the kinase hinge region regulates the activity of receptor tyrosine kinases. Molecular cell. 2007;27(5):717-30.
6. Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. Cytokine & growth factor reviews. 2005;16(2):139-49.
7. Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. Nature Reviews Drug Discovery. 2009;8(3):235-53.
8. Orr-Urtreger A, Bedford MT, Burakova T, Arman E, Zimmer Y, Yayon A, et al. Developmental (localization of the splicing alternatives of fibroblast growth factor receptor-2 (FGFR2). Developmental biology. 1993;158(2):475-86.
9. Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. Cytokine & growth factor reviews. 2005;16(2):179-86.
10. Kan S-h, Elanko N, Johnson D, Cornejo-Roldan L, Cook J, Reich EW, et al. Genomic screening of fibroblast growth-factor receptor 2 reveals a wide spectrum of mutations in patients with syndromic craniosynostosis. American journal of human genetics. 2002;70(2):472-86.
11. Dode C, Levilliers J, Dupont J-M, De Paepe A, Le De N, Soussi-Yanicostas N, et al. Loss-of-function mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome. Nature genetics. 2003;33(4):463-5.
12. Rohmann E, Brunner HG, Kayserili HI, Uyguner O, Nornberg G, Lew ED, et al. Mutations in

- .different components of FGF signaling in LADD syndrome. *Nature genetics*. 2006;38(4):414-7
- Luo J, Solimini NL, Elledge SJ. Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene .13  
.addiction. *Cell*. 2009;136(5):823-37
- Greenman C, Stephens P, Smith R, Dalgleish GL, Hunter C, Bignell G, et al. Patterns of somatic .14  
.mutation in human cancer genomes. *Nature*. 2007;446(7132):153-8
- Ruhe JE, Streit S, Hart S, Wong C-H, Specht K, Knyazev P, et al. Genetic alterations in the .15  
.tyrosine kinase transcriptome of human cancer cell lines. *Cancer research*  
.11368-76:(23)67;2007
- Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Plotnikov AN, Yu K, Ornitz DM, Mohammadi M. Structural basis .16  
for fibroblast growth factor receptor 2 activation in Apert syndrome. *Proceedings of the*  
.National Academy of Sciences. 2001;98(13):7182-7
- .Webster MK, Donoghue DJ. FGFR activation in skeletal disorders: too much of a good thing .17  
.Trends in Genetics. 1997;13(5):178-82
- Bcragsagell PL. Frequent translocation t (4; 14)(p16. 3; q32. 3) in multiple myeloma is .18  
associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor  
.receptor 3. *Nature genetics*. 1997;16:260-4
- Wang J, Stockton DW, Ittmann M. The fibroblast growth factor receptor-4 Arg388 allele is .19  
.associated with prostate cancer initiation and progression. *Clinical cancer research*  
.6169-78:(18)10;2004
- Pytel D, Sliwinski T, Poplawski T, Ferriola D, Majsterek I. Tyrosine kinase blockers: new hope .20  
for successful cancer therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current*  
.Medicinal Chemistry. 2009;9(1):66-76
- Sliwkowski MX, Lofgren JA, Lewis GD, Hotaling TE, Fendly BM, Fox JA. Nonclinical studies .21  
.addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin). *Seminars in oncology*  
.26:60;1999
- Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, et al. Effects of a selective .22  
.inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nature medicine*  
.561-6:(5)2;1996
- Byron SA, Gartside MG, Wellens CL, Mallon MA, Keenan JB, Powell MA, et al. Inhibition of .23  
activated fibroblast growth factor receptor 2 in endometrial cancer cells induces cell death  
.despite PTEN abrogation. *Cancer research*. 2008;68(17):6902-7
- Friedrich I, Shir A, Klein S, Levitzki A. RNA molecules as anti-cancer agents. *Seminars in cancer* .24  
.biology. 2004;14:223-30
- Damm-Welk C, Fuchs U, Wissmann W, Borkhardt A. Targeting oncogenic fusion genes in .25  
.leukemias and lymphomas by RNA interference. *Seminars in cancer biology*. 2003;13:283-92

- M. Carnes et al. "A Stable Tetraalkyl Complex of Nickel(IV)". *Angewandte Chemie International Edition* (2009) 48: 3384. DOI:10.1002/anie.200804435 .26
- S. Pfirrmann et al. "A Dinuclear Nickel(I) Dinitrogen Complex and its Reduction in Single-Electron Steps". *Angewandte Chemie International Edition* (2009) 48: 3357. DOI:10.1002/anie.200805862 .27
- Il'yasova D SGG. Cadmium and renal cancer. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;207:179–186. doi: 10.1016/j.taap.2004.12.005 .28
- Nakashima, T; Matsuno, K; Matsushita. "Lifestyle-determined gender and hierarchical differences in the lead contamination of bones from a feudal town of the Edo period". *Journal of occupational health* , T (2007)49 (2): 134–9. doi:10.1539/joh.49.13 .29
- Yumoto, Sakae; Kakimi, Shigeo; Ohsaki, Akihiro; Ishikawa, Akira."Demonstration of aluminum in amyloid fibers in the cores of senile plaques in the brains of patients with Alzheimer's disease". *Journal of Inorganic Biochemistry*(2009) 103 (11): 1579–84. doi:10.1016/j.jinorgbio.2009.07.023 .30
- Yong Lu, Feng Jiang, Hao Jiang, Kalina Wu, Xuguang Zheng, Yizhong Cai, Mark Katakowski,Michael Choppb, Shing-Shun Tony"Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells"*European Journal of Pharmacology* 641 (2010) 102–107 .31
- M. Naczka, M. Townsend, R. Zadernowski, .Shahidi." Protein-binding and antioxidant potential of phenolics of mangosteen fruit(*Garcinia mangostana*)" *Food Chemistry* 128 (2011) 292–298 .32
- Claudriana Locatelli, Fab?ola Branco Filippin-Monteiro, Tânia Beatriz Creczynski-Pasa"Alkyl esters of gallic acid as anticancer agents: A review"*European Journal of Medicinal Chemistry* 60 (2013) 233e239 .33
- 34Mamdouh S. Masouda, Alaa E. Ali, Sawsan S. Haggag, Nessma M. Nasr." Spectroscopic studies on gallic acid and its azo derivatives and their iron(III) complexes"*Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 120 (2014) 505–511 .34
- Moon H. Kim, Amy Lew Tshako, Erick W. Co, Dana T. Aftab, Frauke Bentzien, Jason Chen, Wei Cheng,Stefan Engst, Levina Goon, Rhett R. Klein, Donna T. Le, Morrison Mac, Jason J. Parks, Fawn Qian,Monica Rodriquez, Thomas J. Stout, Jeffrey H. Till, Kwang-Ai Won, Xiang Wu, F. Michael Yakes,Peiwen Yu, Wentao Zhang, Yeping Zhao, Peter Lamb, John M. Nuss, Wei Xu .35
- ,Daphnie Pauwels, Hugo Klaassen, Idoya Lahortiga, Amuri Kilonda, Kris Jacobs .36
- Bram Sweron, Romuald Corbau, Patrick Chaltin .37
- European Journal of Medicinal Chemistry* 63 (2013) 713e721. Identification of novel FLT3 kinase inhibitors Mustafa RA. Abdul Hamid A. Mohamed S. Bakar FA. "Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants". *Journal of Food Science.* 75(1):C28-35, 2010 Jan-Feb .38
- Ncibi, S; Ben Othman, M; Akacha, A; Krifi, MN; Zourgui, L (2008). "Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver". *Food and chemical toxicology*46 (2): 797–802. doi:10.1016/j.fct.2007.08.047 .39
- "A review on the dietary flavonoid kaempferol" .39

- Calderín-Montaño JM1, Burgos-Morón E, Pérez-Guerrero C, López-Lázaro M. Mini Rev Med Chem. 2011 Apr;11(4):298-344
- Quercetin inhibits invasion, migration and signalling molecules involved in cell survival and proliferation ".40  
".(of prostate cancer cell line (PC-3  
Cell Biochem Funct. 2011 Mar;29(2):87-95. doi: 10.1002/cbf.1725. Epub 2011 Feb 9.Senthilkumar K1,  
Arunkumar R, Elumalai P, Sharmila G, Gunadharini DN, Banudevi S, Krishnamoorthy G, Benson CS,  
Arunakaran J  
Differential effects of quercetin, apigenin and genistein on signalling pathways of protease-activated" .41  
"receptors PAR1 and PAR4 in platelets  
Br J Pharmacol. Nov 2009
- L Navarro-Núñez, J Rivera, JA Guerrero, C Martínez, V Vicente, and ML Lozano  
Naringin inhibits growth potential of human triple-negative breast cancer cells by targeting  $\beta$ -catenin" .42  
".signaling pathway  
.Toxicol Lett. 2013 Jul 18;220(3):219-28. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.05.006. Epub 2013 May 18
- Li H1, Yang B, Huang J, Xiang T, Yin X, Wan J, Luo F, Zhang L, Li H, Ren G  
".Naringin inhibits ROS-activated MAPK pathway in high glucose-induced injuries in H9c2 cardiac cells ".43  
Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2014 Apr;114(4):293-304. doi: 10.1111/bcpt.12153. Epub 2013 Dec 11.Chen  
.J1, Guo R, Yan H, Tian L, You Q, Li S, Huang R, Wu K  
Effects of naringin on the proliferation and osteogenic differentiation of human amniotic fluid-derived stem .44  
cells  
Meimei Liu1,Yan Li2,\* and Shang-Tian Yang1,\*Article first published online: 11 JUN 2014
-